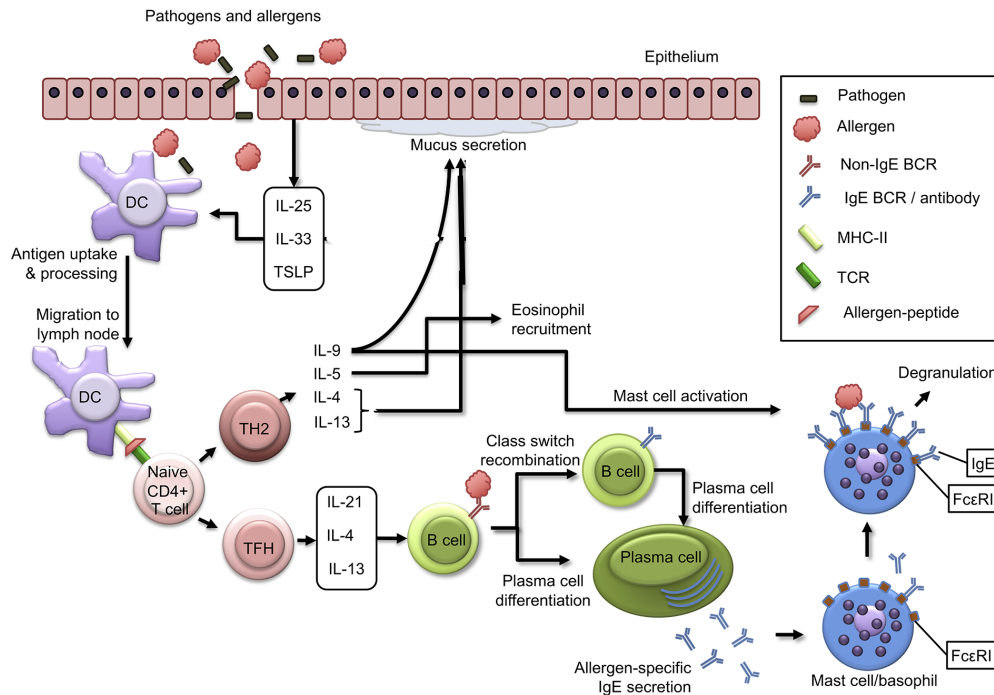
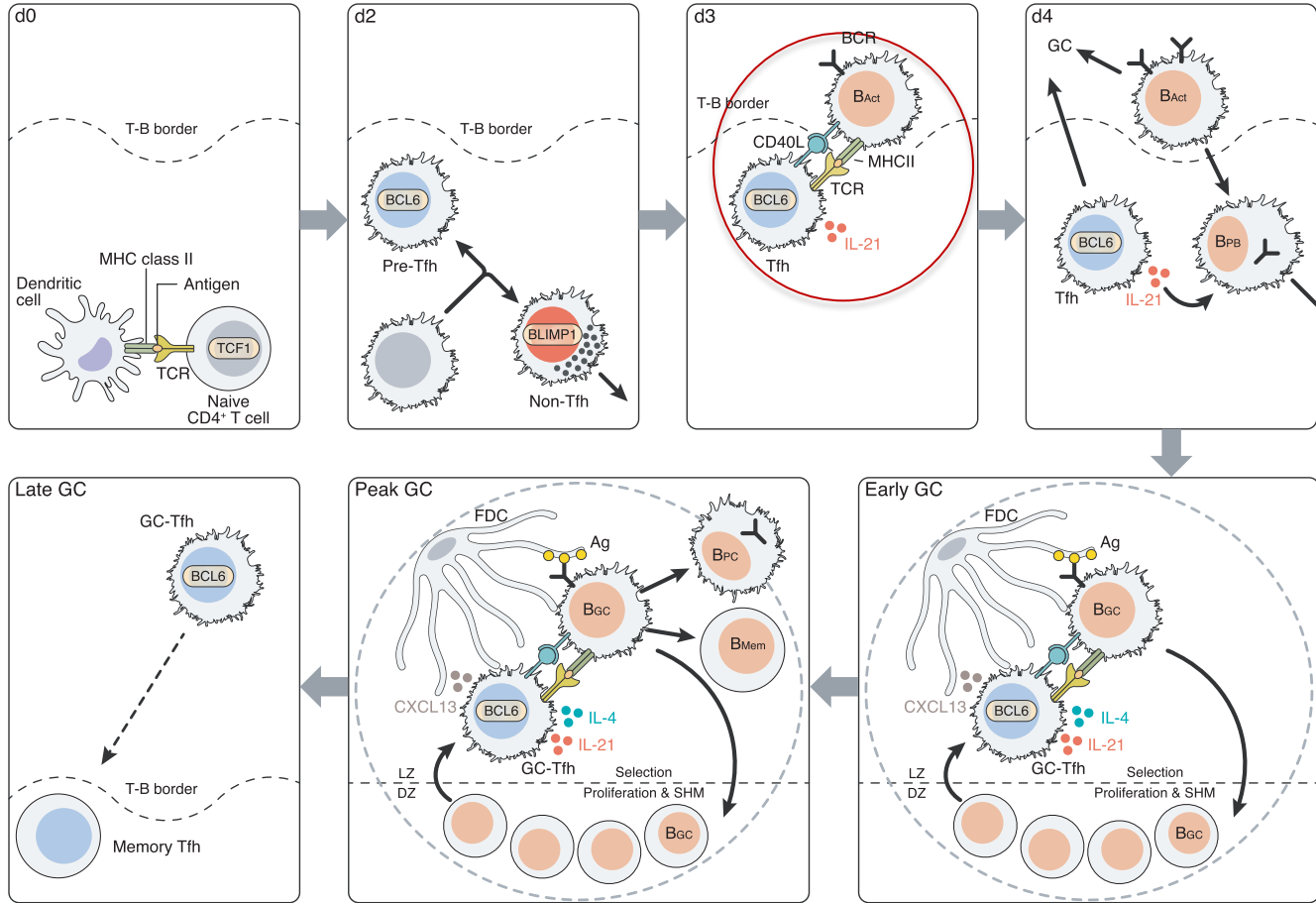


Fase di sensibilizzazione all'allergene

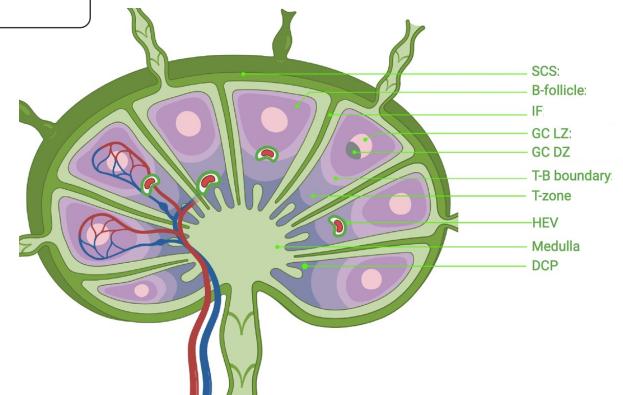


Gli allergeni che attraversano la barriera epiteliale sono captati, processati e presentati dalle cellule dendritiche che a loro volta migrano nei linfonodi drenanti dove presentano l'antigene ai linfociti T naive. Il differenziamento dei linfociti T in Th2 e Tfh dipende dalla costimolazione e dalla presenza di particolari citochine.

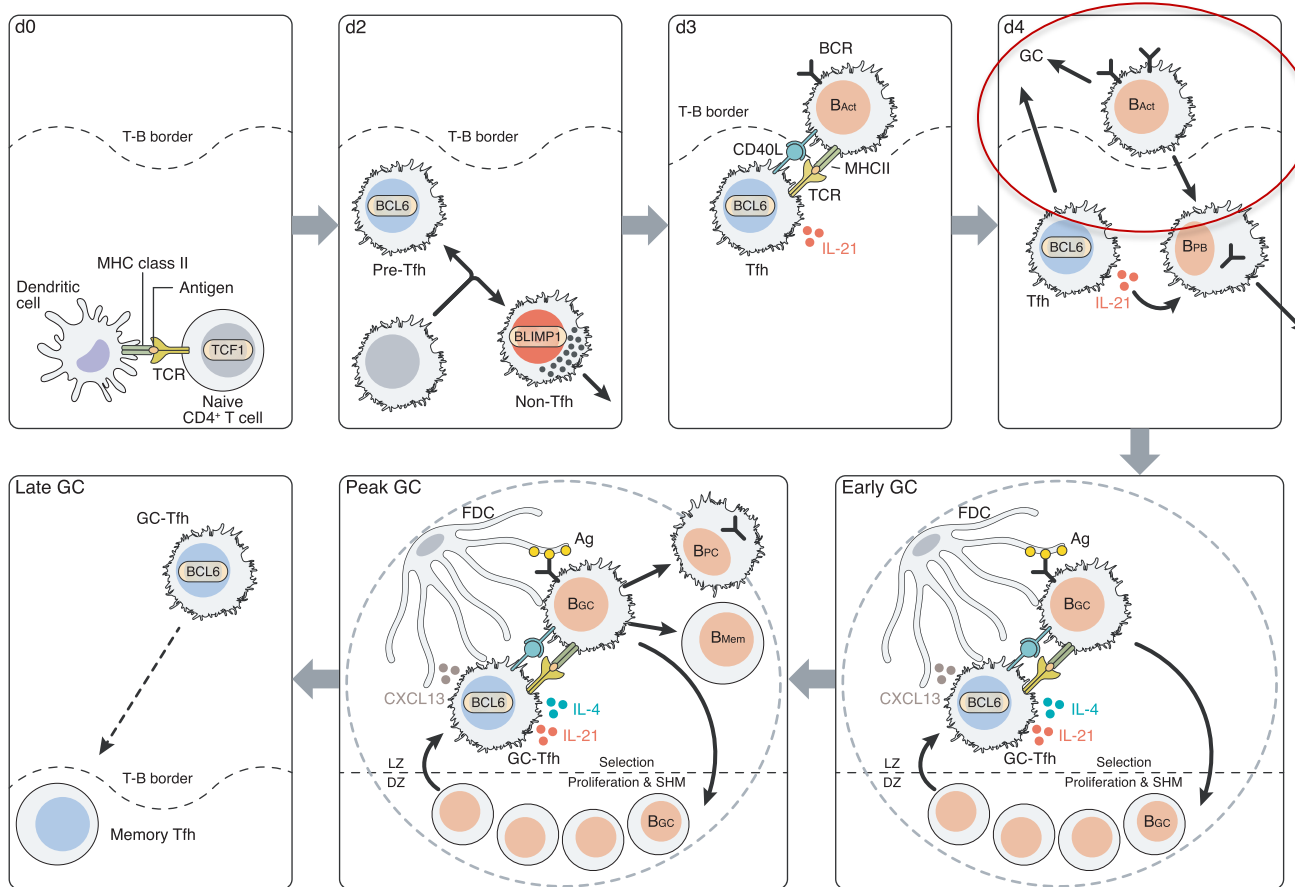
La risposta anticorpale ad antigeni proteici necessita dell'aiuto dei linfociti T



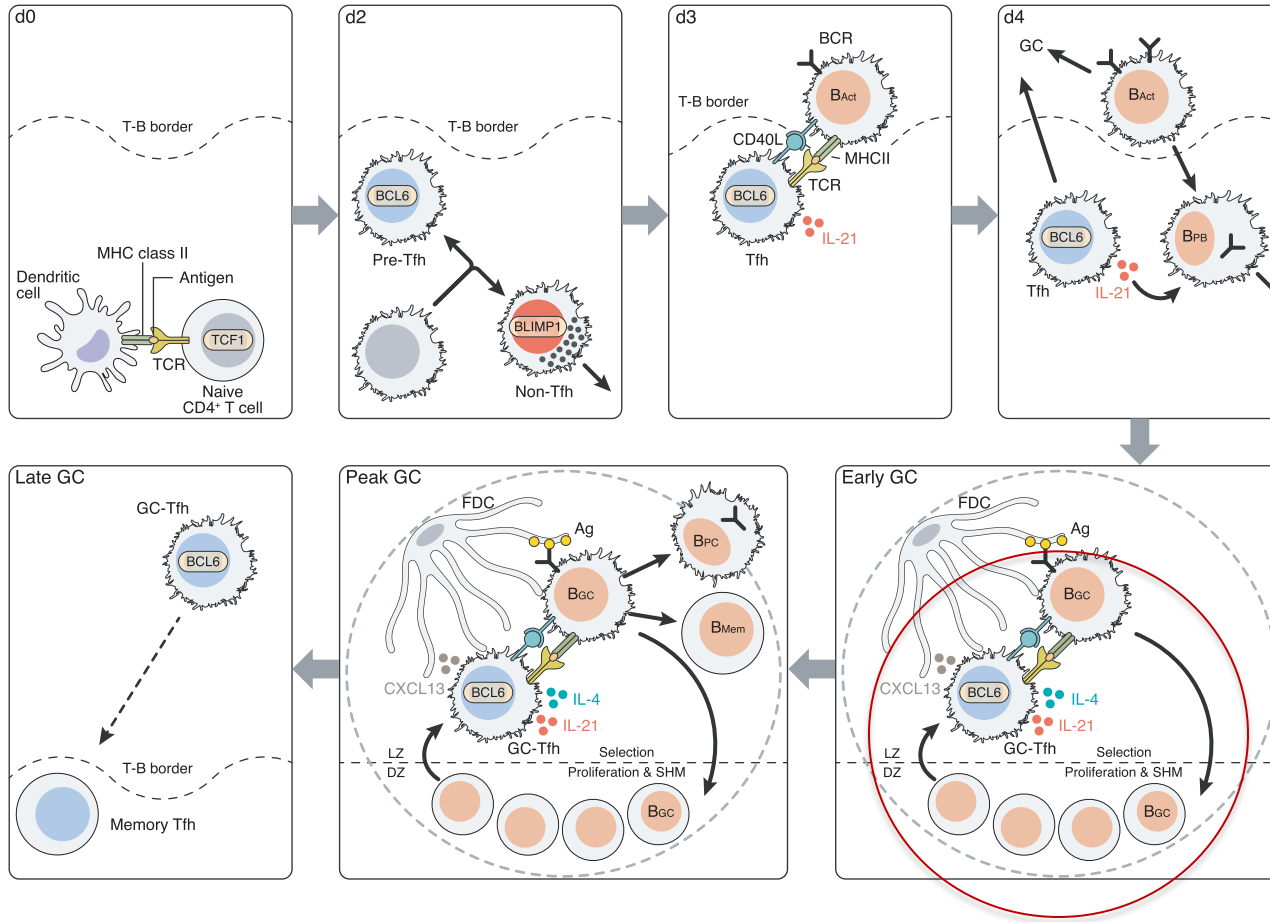
In seguito alla attivazione dei linfociti B dopo il riconoscimento dell'antigene da parte dell'IgM espressa sulla membrana, la risposta anticorpale per poter procedere ha bisogno dell'aiuto da parte dei linfociti T.



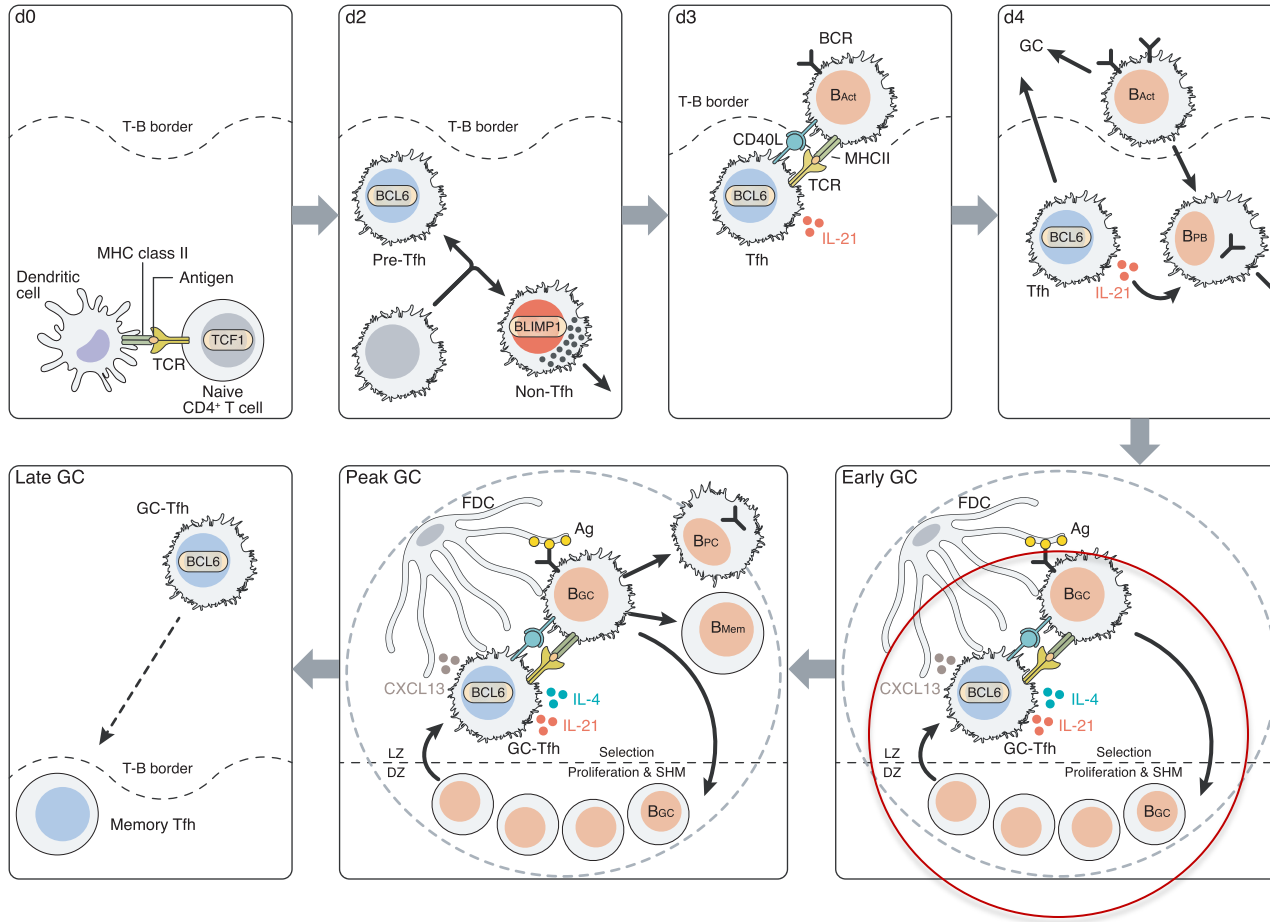
Cinetica e interazioni nella risposta dei linfociti Tfh e B



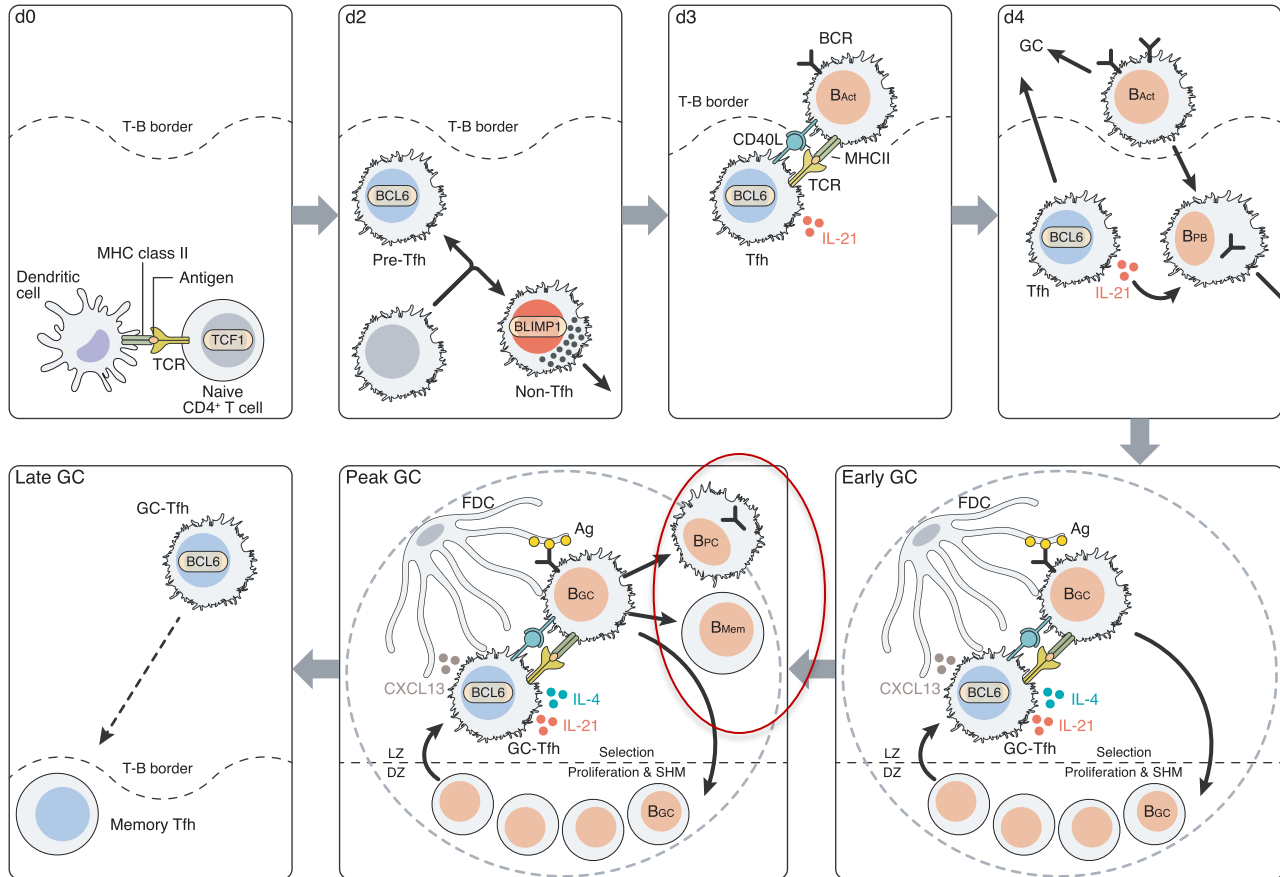
Nella zona di confine fra area T e B del linfonodo i linfociti interagiscono fra di loro. I linfociti B specifici per l'antigene lo captano e lo presentano ai linfociti Tfh. Questi ultimi attraverso l'interazione CD40L-CD40 e la produzione di citochine inviano al linfocita B i segnali necessari per la proliferazione e il differenziamento in plasmacellule e cellule B del centro germinativo (B_{GC}).



I B_{GC} entrano nel follicolo e iniziano a proliferare generando il centro germinativo che è costituito da una zona scura dove le cellule B sono attivamente proliferanti e dove avviene l'ipermutazione somatica e una zona chiara dove sono selezionati i linfociti che esprimono un recettore con elevata affinità per l'antigene (Early GC).



Saranno selezionati i linfociti B che sono in grado di presentare l'antigene a Tfh. Per questo saranno avvantaggiati i linfociti B che presentano un BCR con elevata affinità per l'antigene. I linfociti B che non ricevono segnali dai linfociti T andranno incontro a morte.



Nel centro germinativo I linfociti Tfh oltre a controllare la selezione dei linfociti B con alta affinità per l'antigene regolano anche lo sviluppo dell'immunità umorale a lungo termine attraverso il differenziamento delle cellule B_{CG} in plasmacellule a lunga vita e cellule B della memoria.

Il centro germinativo

Attivazione e migrazione dei linfociti B nel centro germinativo



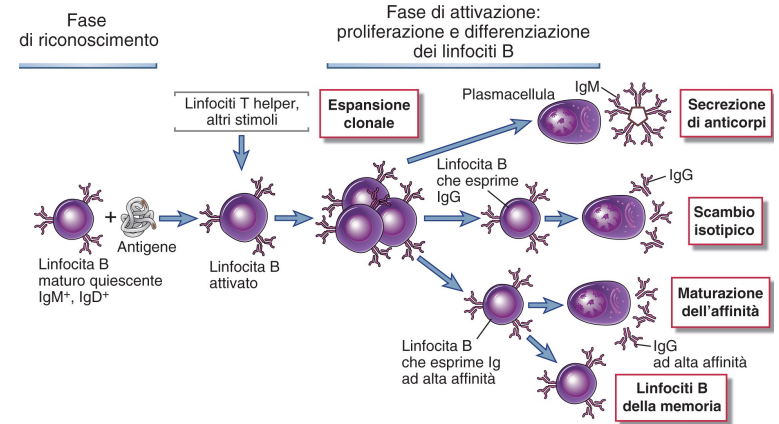
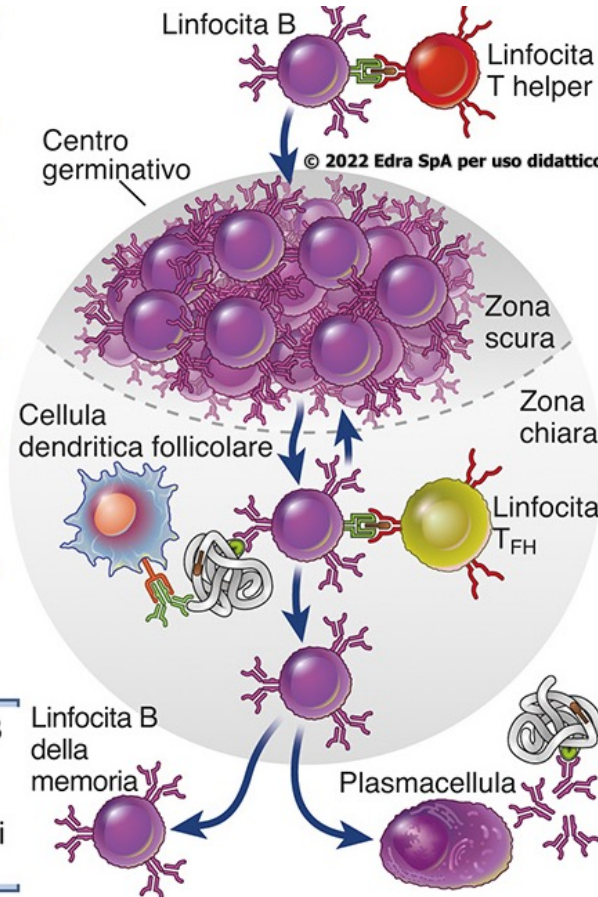
Proliferazione e ipermutazione somatica dei linfociti B



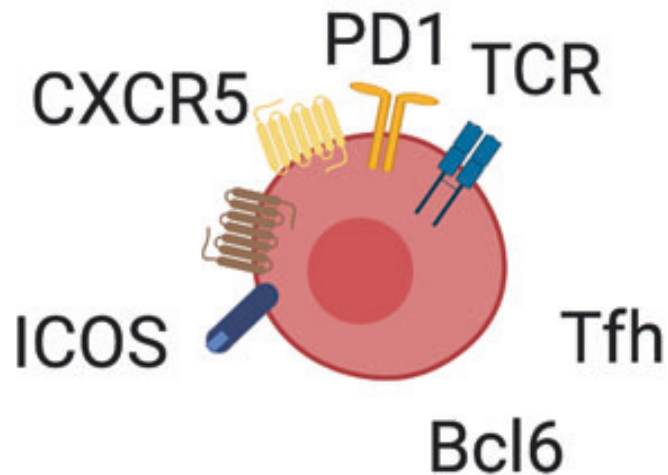
Selezione dei linfociti B ad alta affinità; scambio di classe



Fuoriuscita di cellule B della memoria e di cellule B che producono anticorpi con alta affinità



Caratteristiche dei linfociti T follicolari (TFH)

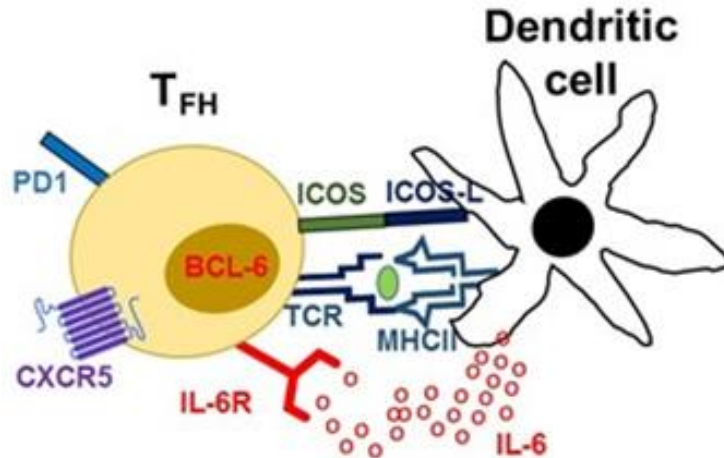


A partire dal 2000 è stata descritta una sottopopolazione di linfociti T helper specializzata nel cooperare con le cellule B nella produzione di anticorpi. Queste cellule definite linfociti T helper follicolari (Tfh) sono caratterizzate dall'espressione di CXCR5 (ligando CXCL13), PD-1, ICOS e il repressore trascrizionale BCL6 e dalla produzione di IL-21.

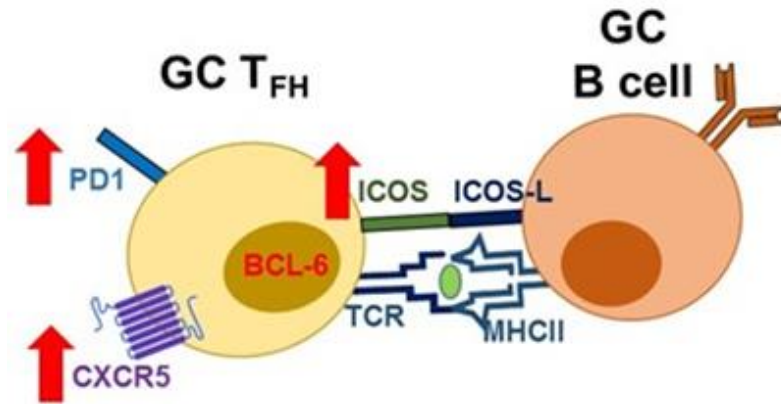
Le Tfh possono produrre anche IFN- γ o IL-4.

Differenziamento dei Tfh

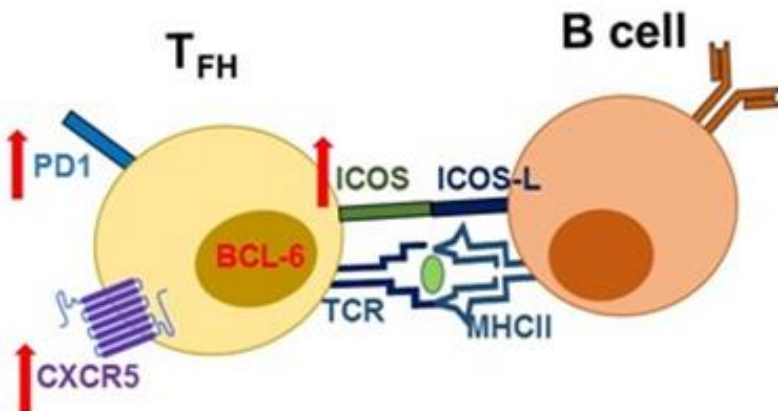
Step 1: T cell zone



Step 3: B cell zone



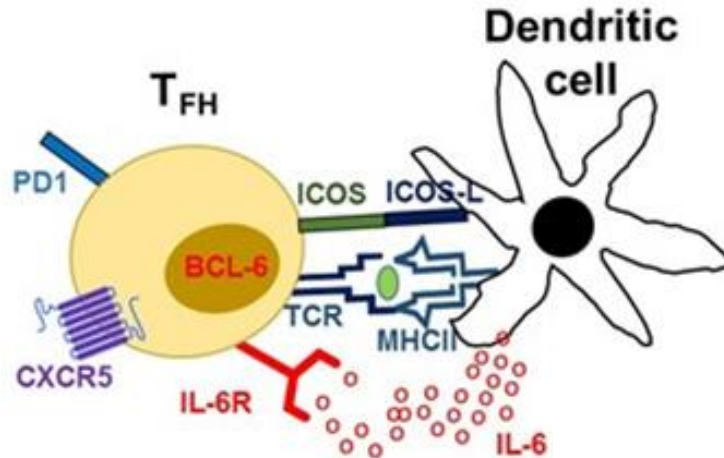
Step 2: T:B cell border



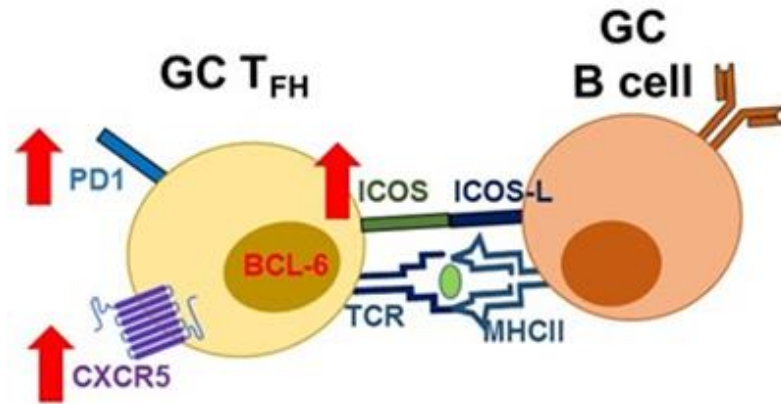
Il differenziamento dei Tfh è un processo multi-fasico che ha inizio nella zona T degli organi linfoidi secondari. Inizialmente i TCD4+ naive riconoscono l'antigene presentato in associazione alle molecole MHC di classe II da parte delle cellule dendritiche. Questo in associazione alle citochine prodotte dalle DC e alla segnalazione inviata attraverso ICOS induce l'espressione di BCL-6 e indirizza il differenziamento delle cellule verso i Tfh.

Differenziamento dei Tfh

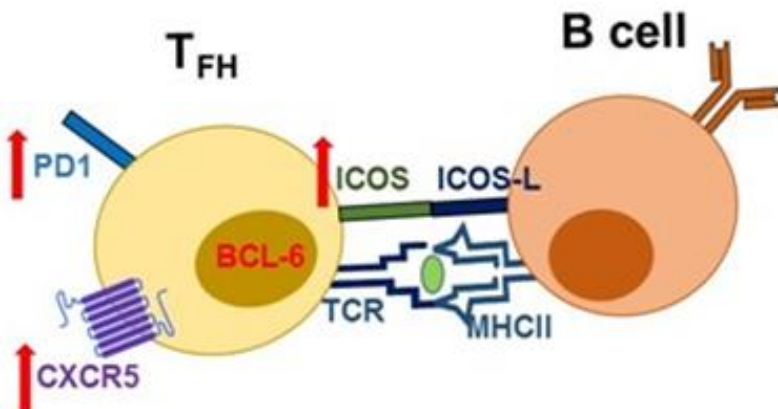
Step 1: T cell zone



Step 3: B cell zone

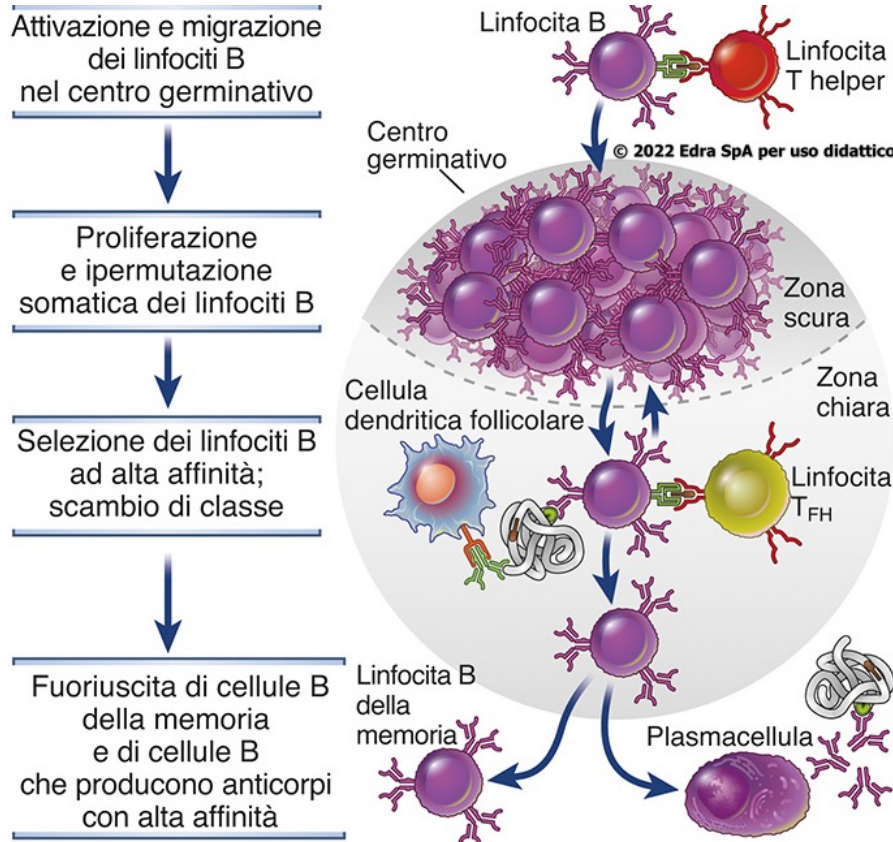


Step 2: T:B cell border



I linfociti T che differenziano in Tfh up-regolano il CXCR5 e down-regolano il CCR7 permettendo alle cellule di muoversi nella zona di confine T-B. Il riconoscimento dell'antigene presentato in associazione alle molecole MHC di classe II da parte dei B promuove il differenziamento dei Tfh che up-regolano CXCR5, PD1 e ICOS e raggiungono la maturazione nel centro germinativo. La segnalazione da parte di ICOS ha un ruolo importante nel differenziamento dei Tfh.

Il centro germinativo



Nel corso della risposta anticorpale saranno prodotti anticorpi di diverso isotipo e con aumentata affinità per l'antigene. Questo è reso possibile da due processi: lo scambio isotipico e l'ipermutazione somatica.

Commutazione di classe delle Immunoglobuline

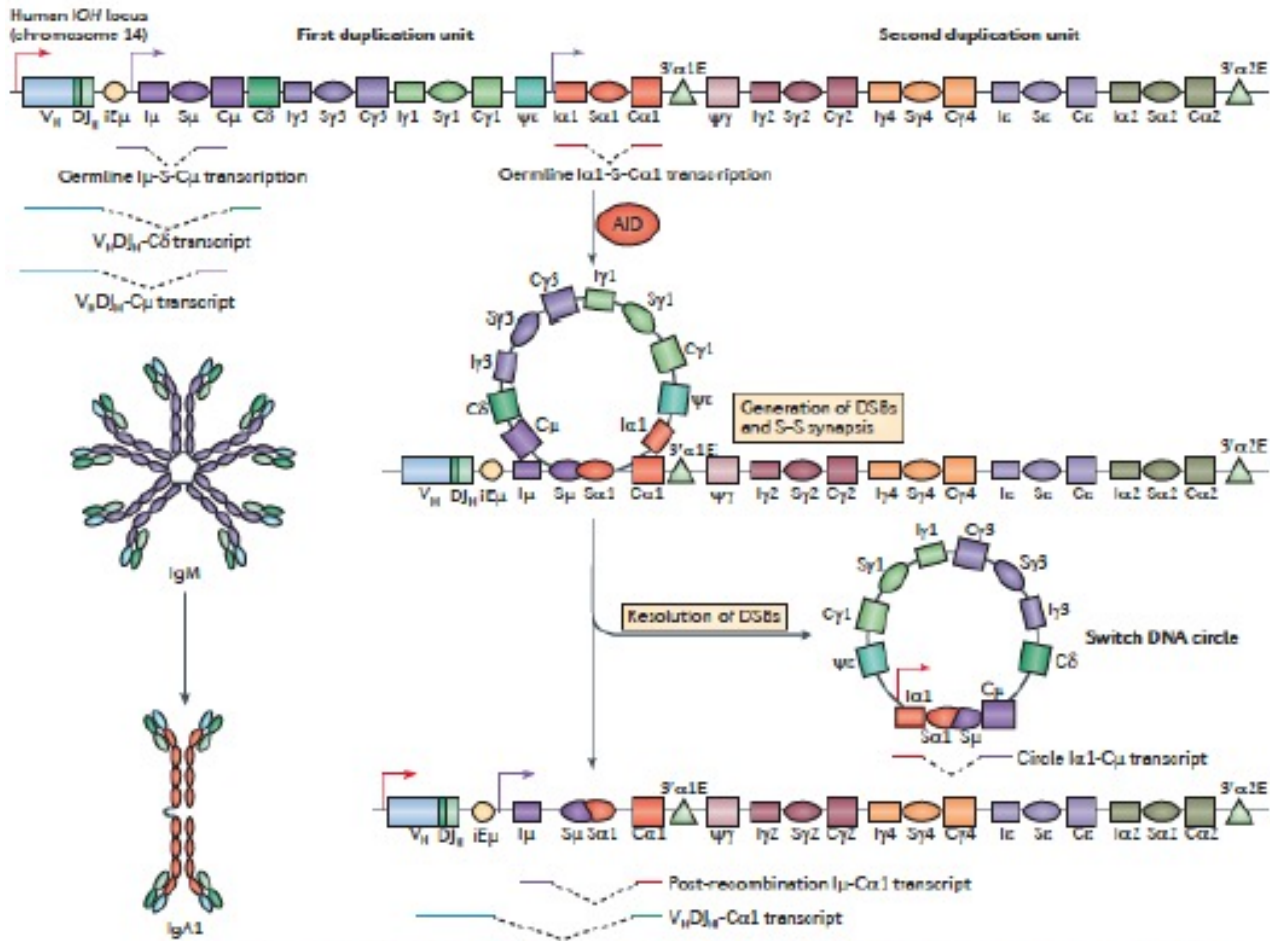
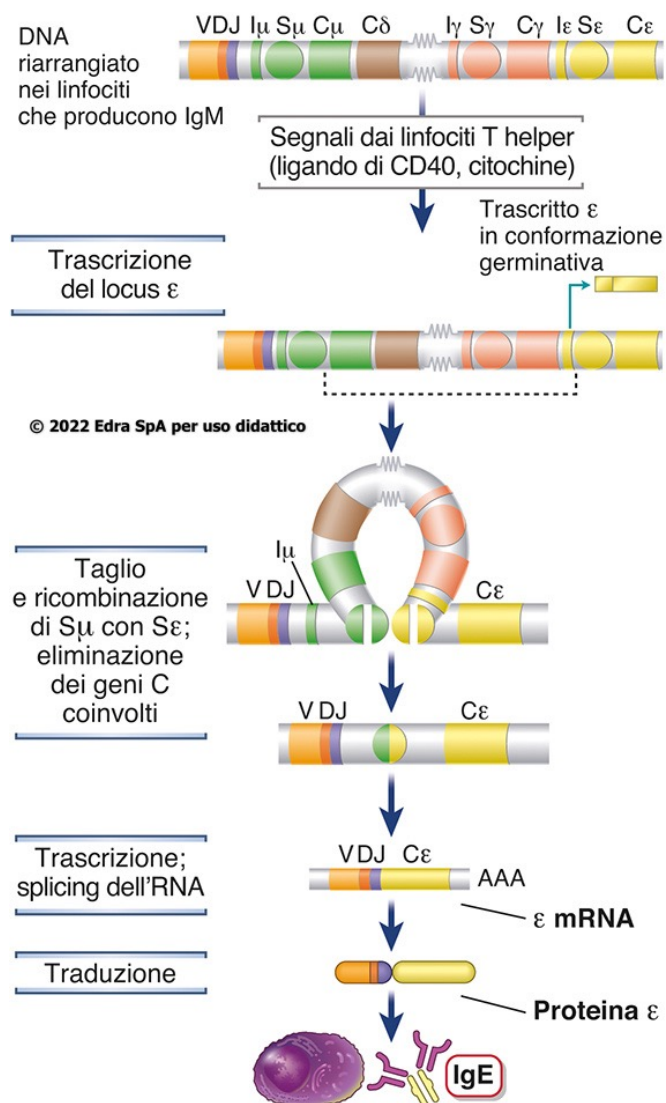


Figure 1 | CSR entails DNA deletion. Class-switch DNA recombination (CSR) exchanges the gene encoding the immunoglobulin heavy chain constant region (C_H) with one of a set of downstream C_H genes (the figure depicts CSR between S_H and S_H1 in the human immunoglobulin heavy chain (IGH) locus). This deletion-recombination reaction requires activation-induced cytidine deaminase (AID) and involves the generation of DNA double-strand breaks (DSBs) in switch (S) regions (which lie upstream of the C_H gene) followed by DSB repair. This leads to the juxtaposition of rearranged V_HDJ_H DNA (which encodes the heavy chain variable region) with a downstream C_H exon cluster and deletion of the intervening sequence between S regions as an extrachromosomal circle. ψ, pseudogene; 3'αE, 3'α enhancer; iE_H, IGH intronic enhancer; I_H, IGH intervening region.

La commutazione di classe è il processo che permette che una parte dei linfociti B attivati produca anticorpi con stessa specificità per l'antigene e diversa regione costante (isotipo). La commutazione di classe avviene attraverso la sostituzione di un cluster costante (es: C_μ) con un altro cluster (es: C_γ).

Commutazione di classe/switch isotipico/della catena pesante

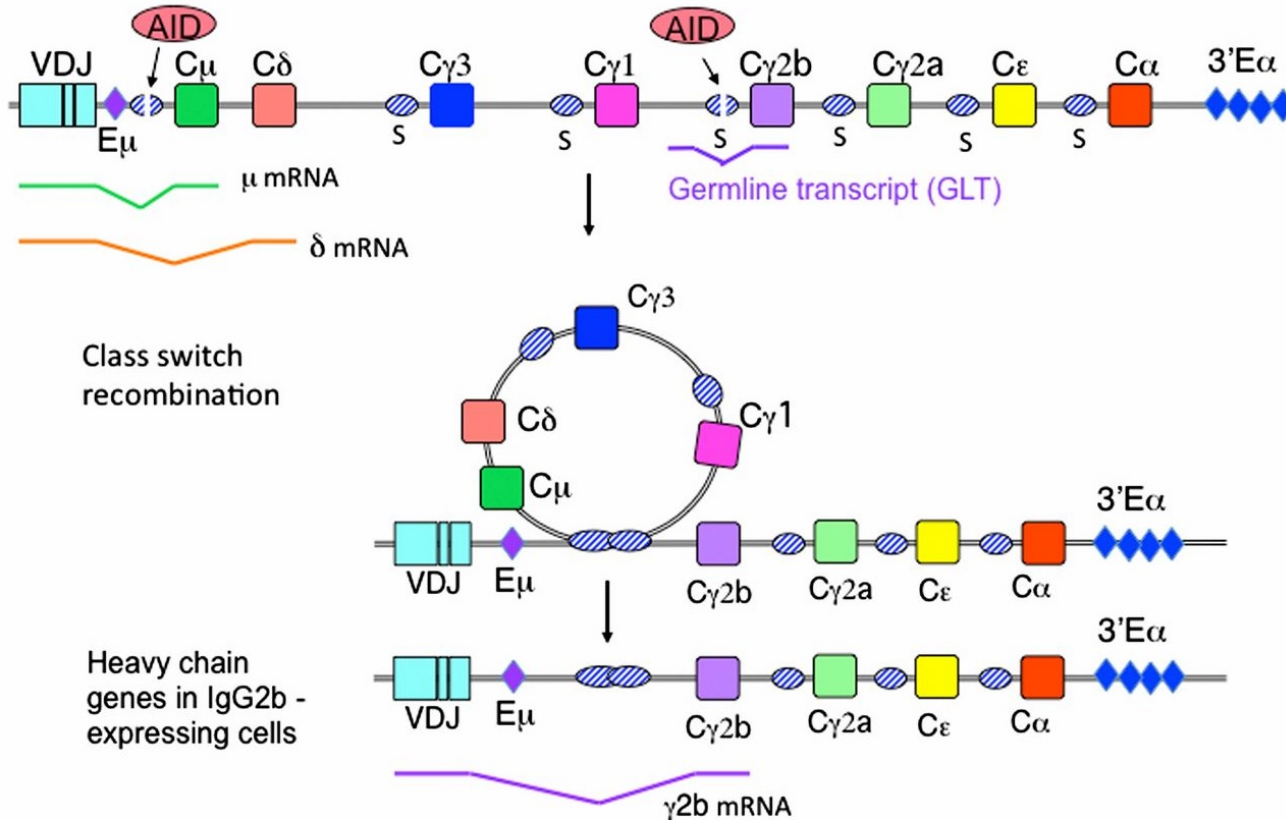


Lo scambio di classe è un processo di ricombinazione in cui la regione del DNA che codifica per la regione costante della catena pesante della immunoglobulina viene tagliata e ricombinata in modo tale per cui l'esone VDJ che codifica per la regione V viene posto accanto ad una regione costante più a valle ed il DNA interposto eliminato

Lo scambio isotipico è regolato dalle citochine prodotte dai linfociti T helper follicolari e dalla interazione CD40 (espresso sui linfociti B) con il CD40 ligando (CD40L) espresso dai linfociti Tfh attivati.

Lo scambio isotipico verso le IgE richiede la citochina IL-4.

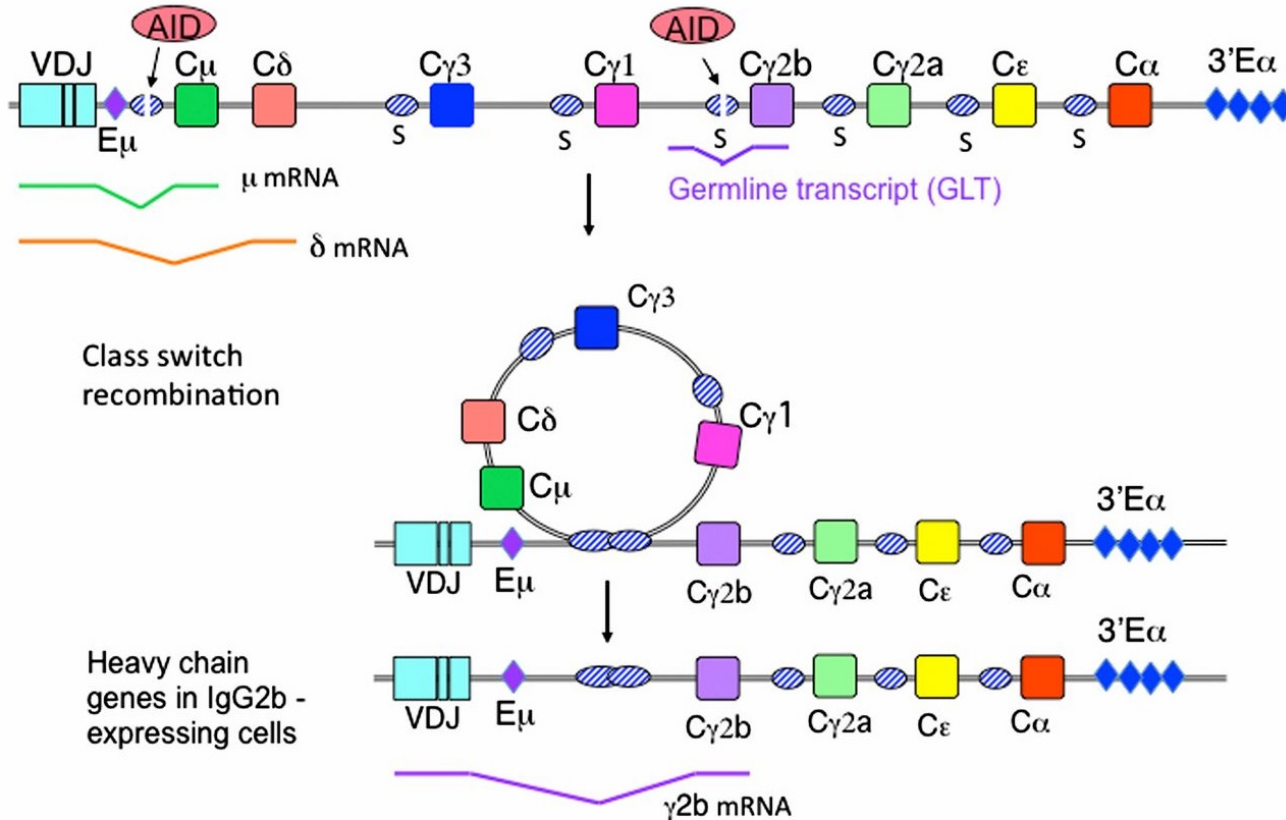
Heavy chain genes in IgM expressing cells



Nello scambio isotipico gli eventi di ricombinazione coinvolgono sequenze nucleotidiche che sono presenti al 5' di ogni locus C_H che sono definite switch regions.

Queste sequenze presentano un esone I (iniziatore della trascrizione) preceduto da una regione promotrice. Affinchè possa avvenire la ricombinazione fra le sequenze di switch è necessario che avvenga la trascrizione delle sequenze I-S-C. Tali trascritti germinativi non sono tradotti in proteine.

Heavy chain genes in IgM expressing cells



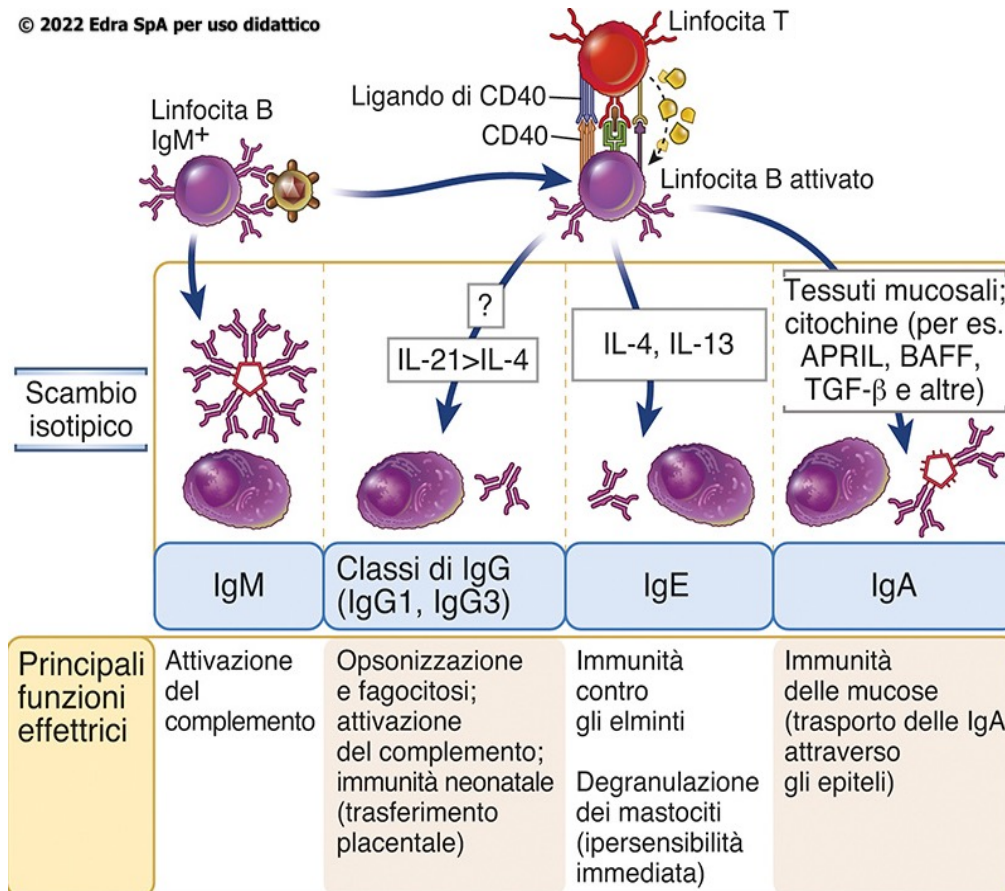
I trascritti germinativi sono presenti a livello del locus μ che del locus della catena pesante coinvolta nello scambio isotipico.

I trascritti germinativi permettono la formazione di catene ibride DNA-RNA con un filamento di DNA lasciando libero l'altro filamento sul quale agirà l'enzima AID (activation induced deaminase) responsabile dello scambio isotipico.

L'interazione fra CD40 e CD40L induce l'espressione di AID.

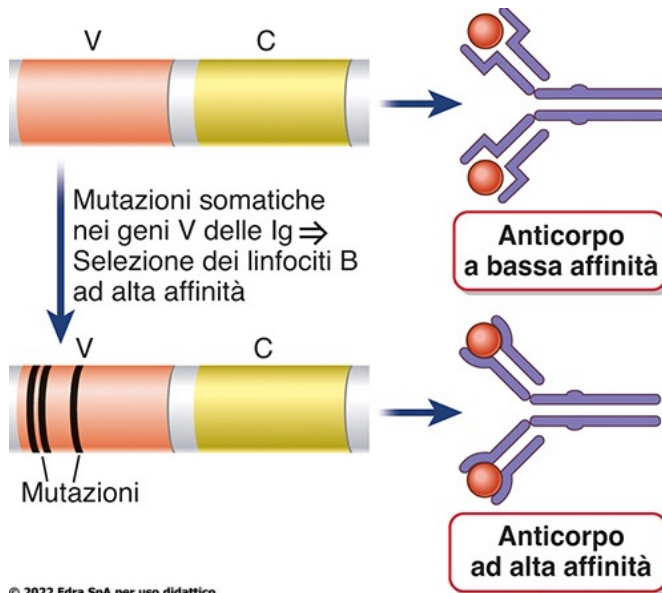
Ruolo delle citochine nello switch isotipico

© 2022 Edra SpA per uso didattico



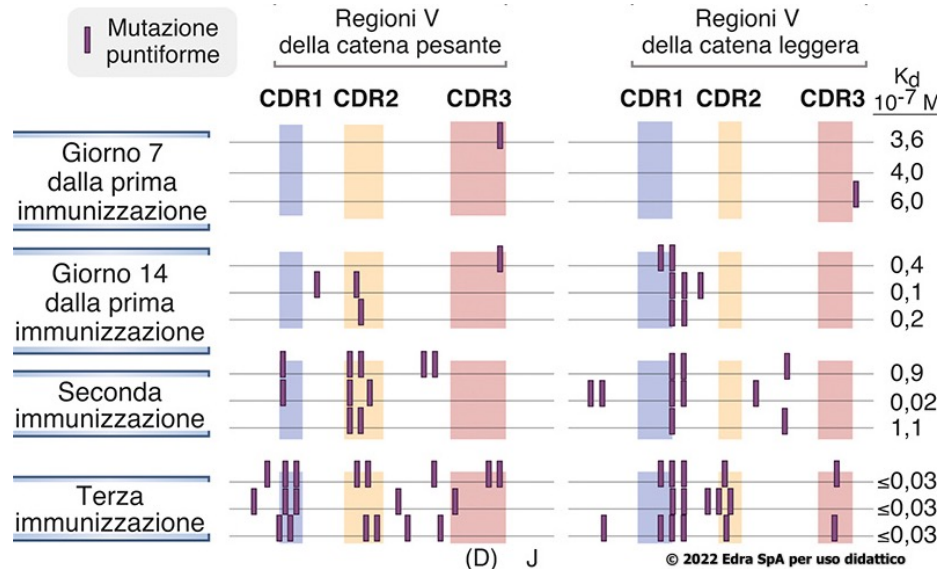
Le citochine avviano lo scambio di classe attivando la trascrizione dei trascritti germinativi. In particolare l'IL-4 e l'IL-13 promuovono lo switch isotipico da IgM a IgE.

Ipermutazione somatica

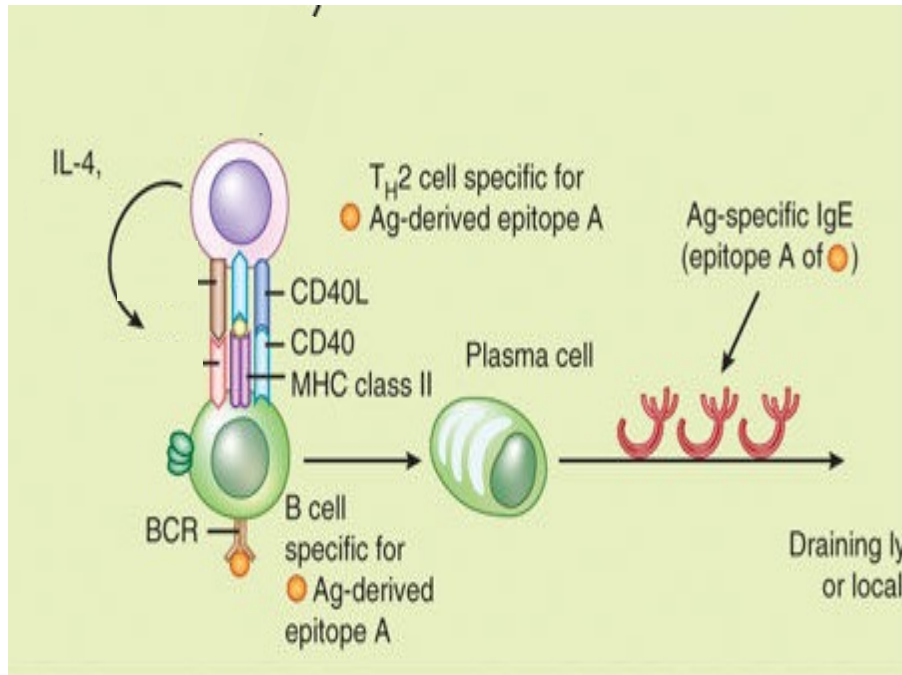


Nei linfociti B della zona scura che stanno proliferando i geni V che codificano per la regione variabile dell'immunoglobulina vanno incontro a mutazioni puntiformi con elevata frequenza.

© 2022 Edra SpA per uso didattico



I linfociti Tfh attivano i linfociti B specifici per l'allergene e inducono la produzione di IgE

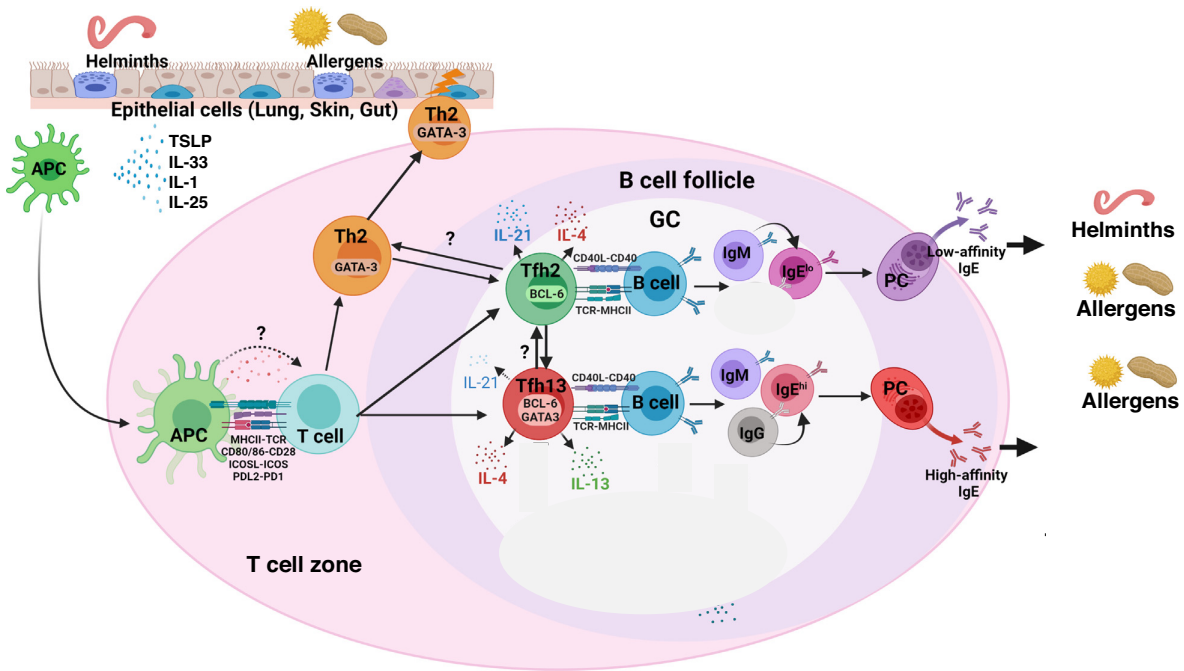


La generazione della risposta anticorpale IgE necessita dell'aiuto dei T helper e della IL-4. Per molto tempo i Th2 che producono IL-4 sono state considerate le cellule responsabili della risposta IgE. Recentemente esperimenti in topi deficienti in BCL6, che abroga lo sviluppo dei Tfh, hanno dimostrato l'importanza di tali cellule nella produzione di IgE allergene specifiche.

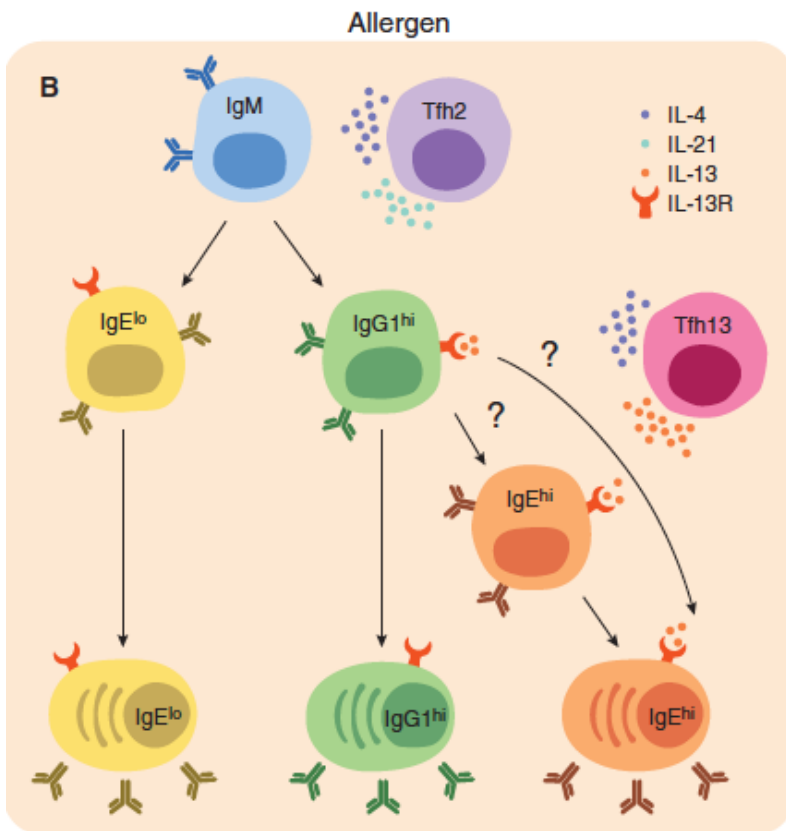
In base a questi dati si ritiene che nel corso delle risposte agli allergeni i Tfh agiscano nel sostenere la risposta IgE mentre i Th2 nel mediare la risposta infiammatoria di tipo 2.

I linfociti Thelper follicolari allergene specifici inducono i linfociti B a produrre IgE specifiche per l'allergene

Studi recenti hanno dimostrato che la produzione di IgE anche in risposte fisiologiche come quelle verso gli elminti richiede le Tfh producenti IL-4 denominate Tfh2. La cooperazione da parte delle cellule Tfh2 producenti IL-4 promuove la produzione di IgE da parte dei linfociti B. E' stato dimostrato che gli allergeni inducono IgE ad alta affinità che invece sono raramente prodotte nelle risposte fisiologiche.



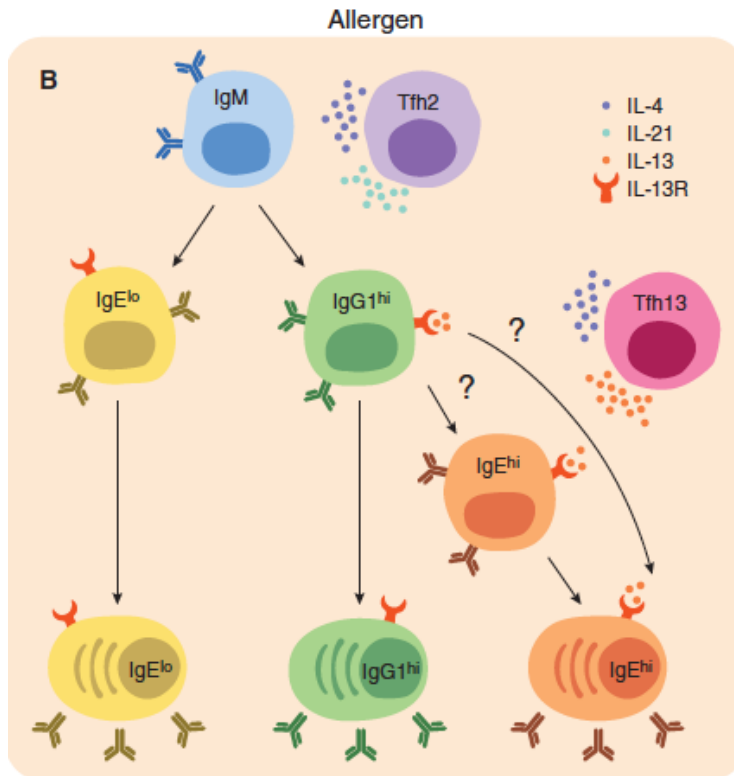
Modello dell'induzione di IgE durante l'esposizione all'allergene



Durante la fase di sensibilizzazione all'allergene (modelli animali con allergeni inalati o ingeriti) sono indotte Tfh2 in grado di produrre IL-4. Più recentemente è stata identificata una popolazione di Tfh produttori IL-4 e IL-13 ed esprimenti GATA3 e BCL6 denominata Tfh13.

La perdita di tali cellule nel modello murino determina un difetto nella induzione di IgE allergene specifiche. Attualmente è stato proposto che le Tfh2 mediano lo switch verso IgE a bassa affinità mentre le Tfh13 mediano lo switch verso le IgE ad alta affinità.

Modello dell'induzione di IgE durante l'esposizione all'allergene



Mentre l'IL-4 media lo switch dell'immunoglobulina diretto da IgM a IgE, l'IL-13 potrebbe essere coinvolta nello switch sequenziale da IgG1 a IgE. Lo switch sequenziale IgG \rightarrow IgE determina la generazione di IgE ad alta affinità che sono indotte dagli allergeni.

Caratteristiche delle risposte IgE

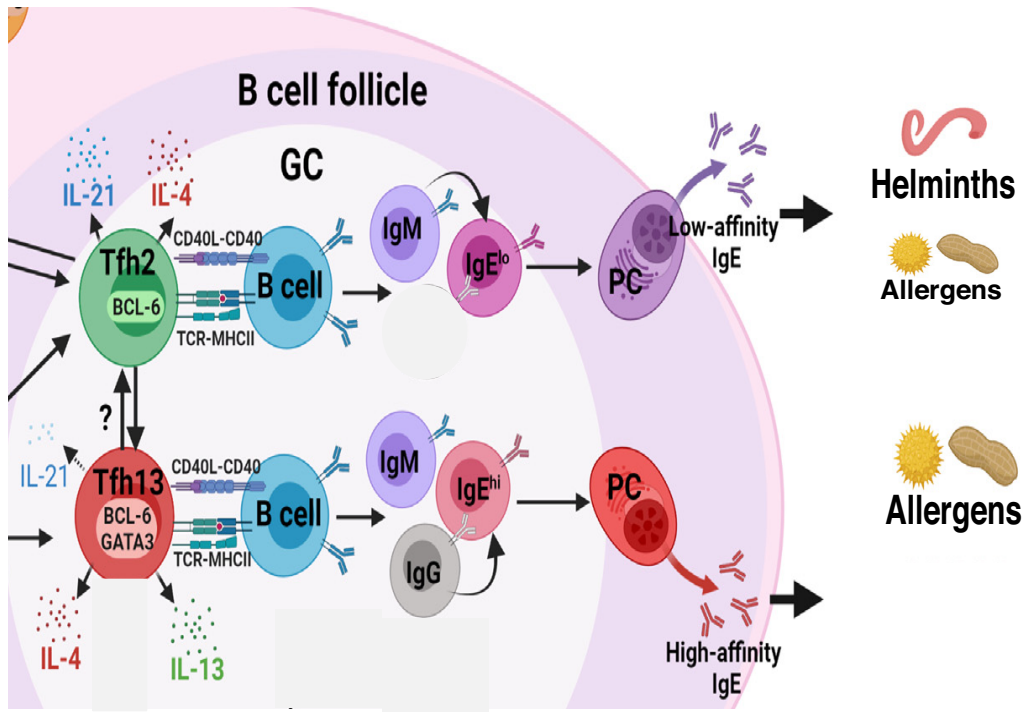
Le cellule IgE⁺ nel centro germinativo sono rare

Lo switch a IgE avviene nel CG ma la maggior parte delle cellule B IgE⁺ differenziano in plasmacellule che lasciano il CG.

Le IgE con aumento della affinità avviene attraverso uno switch sequenziale da IgM a IgG e poi a IgE. Lo switch diretto IgM-IgE genera IgE a bassa affinità.

Cellule B della memoria IgE sono rare. In seguito a re-incontro con l'antigene le cellule B della memoria IgG1 differenziano in plasmacellule secernenti IgE.

Produzione di IgE nella fase di sensibilizzazione



Nella fase di sensibilizzazione sono generate sia Tfh2 che Tfh13. Queste ultime sono unicamente indotte nelle condizioni allergiche.